

Erlangen 1972

Über die Zuverlässigkeit radioimmunologischer Insulinbestimmungen

von
Bernd Sommer
aus
Bonn



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548610_0030

Aus der Medizinischen Klinik mit Poliklinik
der Universität Erlangen-Nürnberg
Direktor: Professor Dr. L. Demling

Über die Zuverlässigkeit radioimmunologischer Insulinbestimmungen

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg

vorgelegt

von

Bernd Sommer

aus

Bonn

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen Fakultät der
Friedrich-Alexander Universität Erlangen-Nürnberg.



Dekan: Professor Dr. med. G. Koch

Referent: Professor Dr. med. L. Demling

Tag der mündlichen Prüfung: 18. 7. 1972

Inhaltsverzeichnis

	Seite
Einleitung	1
Material und Methodik	1
Ergebnisse	3
Spezifität	3
Eichkontrollen	4
Präzision	5
Richtigkeit	5
Empfindlichkeit	6
Diskussion	7
Zusammenfassung	11
Abbildungen	12
Tabellen	18
Literaturverzeichnis	26

Für die Bestimmung des radioimmunologisch meßbaren Insulins stehen mehrere Verfahren zur Verfügung (7, 11, 13, 21, 22), die zum Teil durch Entwicklung kommerziell erhältlicher Testbestecke zu Routinemethoden ausgebaut wurden (14). So ist auch die von YALOW und BERSON erstmals angegebene Methode (21, 22) von NIEMANN und Mitarbeitern modifiziert (14) und in Form des Radioimmunbestecks Insulin der Farbwerke Hoechst AG in den Handel gebracht worden (14). Deshalb stellten wir uns in der vorliegenden Arbeit die Aufgabe, die Zuverlässigkeit der mit den Reagentien dieser Testpackung gewonnenen Analysenergebnisse zu prüfen.

Material und Methodik

Die Insulinbestimmungen erfolgten ausschließlich mit dem Radioimmunbesteck der Farbwerke Hoechst AG unter Berücksichtigung der dafür angegebenen methodischen Details (14), denen das Prinzip der Isotopenverdünnung zugrunde liegt. Hierbei wird die Bindung von Jod-125-markiertem Insulin an den Hormonantikörper (Anti-Schweineinsulinserum) von Meer-schweinchen durch das zu bestimmende unmarkierte Insulin

kompetitiv und quantitativ gehemmt; d. h. bei steigenden Konzentrationen von unmarkiertem Hormon nimmt der Anteil der antikörpergebundenen Radioaktivität ab, da das unmarkierte Hormon das markierte aus seiner Bindung an den Antikörper verdrängt. Zur Herstellung einer Eichkurve werden dem Ansatz verschiedene bekannte Insulinmengen als Standard zugesetzt. Nach entsprechender Inkubationszeit wird das an Antikörper gebundene Jod-125-Insulin (G) von dem freien Jod-125-Insulin (F) mit Hilfe des Anionenaustauschers Amberlite getrennt. Die Radioaktivität des Jod-125-Insulin-Antikörperkomplexes zeigt dann eine den verschiedenen Konzentrationen des als Standard zugesetzten unmarkierten Insulins entsprechende Abnahme der Bindung von markiertem Hormon. Setzt man anstelle der Hormonstandardlösungen Serum ein, so wird das darin enthaltene Insulin je nach Konzentration Jod-125-Insulin aus seiner Antikörperbindung verdrängen. Mit Hilfe der Eichkurve läßt sich dann das Ausmaß der Verdrängung einer bestimmten Hormonkonzentration zuordnen.

Spezifität, Empfindlichkeit, Präzision und Richtigkeit der Methode dienten als Kriterien der Zuverlässigkeit (1, 2, 3, 4, 15). Darüber hinaus wurde die Eichung statistisch überprüft.

Ergebnisse

1. Spezifität

a. Versuche an Pankreatektomierten und insulinbedürftigen jugendlichen Diabetikern

Davon ausgehend, daß endogenes Seruminsulin mit Hilfe des Radioimmunoassays bei total Pankreatektomierten und insulinbedürftigen jugendlichen Diabetikern nicht mehr nachweisbar sein dürfte, wurde das immunologisch meßbare Insulin bei 2 total pankreatektomierten Patienten und 4 insulinbedürftigen jugendlichen Zuckerkranken mit einer Diabetesdauer zwischen 10 und 20 Jahren sowohl nüchtern als auch nach kombinierter B-Zellenstimulation mit Glukose, Tolbutamid und Glukagon bestimmt. Es zeigte sich, daß das immunologisch meßbare Insulin bei den beiden Patientengruppen weder nüchtern noch zu den verschiedenen Zeitpunkten des Stimulationsversuches nachzuweisen war. Beim Kontrollkollektiv wurde immunologisch meßbares Insulin regelmäßig gefunden (Abb. 1).

b. Wiederfindungsversuche

Ein anderer Beweis für die Spezifität des Immunoassays ist die nahezu vollständige Wiederfindung von exogenem Insulin, das dem Serum zugesetzt wird. Deshalb reicherten wir ein Poolserum bekannter IMI-Konzentration ($54 \mu\text{E/ml}$) mit steigenden Mengen kristallinen Insulins an, um nachfolgend die wiedergefundene Konzentration zu messen. In Tab. 1 sind die Resultate angegeben. Die durchschnittliche Wiederfindung betrug 96,8 %.

2. Eichkontrollen

Die mit dem Radioimmunbesteck Insulin innerhalb von 1 1/2 Jahren gewonnenen Eichkurven sind in Abb. 2 anhand der errechneten Mittelwerte und Standardabweichungen dargestellt. Tab. 2 enthält die für alle Standardkonzentrationen gefundenen G/F-Werte sowie die Variationskoeffizienten. Die eingesetzten Reagenzien stammten aus 26 verschiedenen Testpackungen, die spezifischen Radioaktivitäten des Jod-125-Insulins lagen zwischen 13 und $19 \mu\text{Ci}$.

3. Präzision

Die Präzisionsprüfung erfolgte für verschiedene Konzentrationsbereiche. Verwendet wurden 3 Poolseren, die von nüchternen und mit Glukose stimulierten stoffwechselgesunden Probanden gewonnen wurden. Die Stimulationsdosen betrugen 20 bzw. 80 g Glukose in 300 ml Tee, die eine Stunde vor Blutentnahme oral verabreicht wurden. Folgende Konzentrationsbereiche, die in 8 Ansätzen durch Dreifachbestimmungen ermittelt wurden, lagen zugrunde:

$13 \pm 4,45 \text{ } \mu\text{E/ml}$; $53 \pm 7,65 \text{ } \mu\text{E/ml}$ und $100 \pm 13 \text{ } \mu\text{E/ml}$.

Je 20 Einzelmessungen dienten der Präzisionskontrolle in der Reihe, je 12 Doppelbestimmungen aus jedem Pool, die im Laufe eines Jahres mit jeweils neu gelieferten Bestekken und von 5 verschiedenen Untersuchern durchgeführt wurden, der Präzisionsprüfung von Tag zu Tag. In Tab. 3 sind die Variationskoeffizienten für die einzelnen Konzentrationsbereiche angegeben.

4. Richtigkeit

Die Richtigkeit der Methode, die bei Hormonanalysen von großer Bedeutung ist, wurde anhand von Zusatzversuchen ermittelt. 3 Poolseren unterschiedlicher Ausgangskonzentrationen, die in Vorversuchen bestimmt wurden, dienten

der Zugabe bekannter Insulinmengen. Als Maß für die Übereinstimmung zwischen Sollwert und gefundenem Wert (Istwert) wurden die Regressionsgeraden berechnet (Abb. 3 a, 3 b, 3 c). Für die niedrigste Sollkonzentration von 13 $\mu\text{E/ml}$ ergab sich $y = 0,927 x$, für die mittlere Sollkonzentration von 47 $\mu\text{E/ml}$ $y = 0,972 x$ und für die höchste Ausgangskonzentration von 99 $\mu\text{E/ml}$ $y = 0,994 x$. In den Tabellen 4 a, 4 b und 4 c sind die Resultate der Richtigkeitsprüfung zusammenfassend dargestellt. Jede gemessene IMI-Konzentration entspricht einer Dreifachbestimmung.

5. Empfindlichkeit

Die Empfindlichkeit des Radioimmunoassays wurde durch Verdünnungsversuche geprüft. Hierzu verwendeten wir ein Poolserum, dessen mittlere Ausgangskonzentration von 106 $\mu\text{E/ml}$ bei einer Standardverdünnung von 1 : 10 in 9 verschiedenen Ansätzen bestimmt wurde. Tab. 5 zeigt die Ergebnisse. Die untere Nachweisgrenze für das immunologisch meßbare Insulin lag bei 2 $\mu\text{E/ml}$. Für die gleichzeitig berechnete Regression ergab sich $y = 1,043 x$ (Abb. 4).

Diskussion

Von verschiedenen Autoren liegen Angaben über die Spezifität radioimmunologischer Insulinbestimmungen vor (1, 12, 13, 21, 22). So konnte gezeigt werden, daß im Blutplasma von pankreatektomierten Hunden kein Insulin nachweisbar war (5, 19), zugesetztes Insulin nahezu vollständig wiedergefunden wurde (22) und Plasmaverdünnungen proportional verminderte Konzentrationswerte ergaben (22). An den von uns untersuchten jugendlichen insulinbedürftigen Diabetikern und total pankreatektomierten Patienten betrug die Konzentration des immunologisch meßbaren Insulins zu allen Zeitpunkten der maximalen B-Zellen-Stimulation $0 \text{ } \mu\text{E/ml}$. Somit ließen sich die im Tierversuch gewonnenen Ergebnisse auch beim Menschen als Spezifitätsnachweis bestätigen. Das in Zusatzversuchen zu 96,8 % wiedergefundene exogene Insulin weist ebenfalls auf eine hohe Spezifität der Methode hin und läßt den Schluß zu, daß endogenes und exogenes Insulin immunologisch identisch reagieren.

Die Präzisionsprüfung, die für verschiedene Konzentrationsbereiche in der Reihe und von Tag zu Tag erfolgte, zeigte unterschiedliche Resultate. Die niedrigsten Variationskoeffizienten fanden sich im Konzentrationsbereich von $100 \pm 13,9 \text{ } \mu\text{E/ml}$, die höchsten in dem von $13 \pm 4,45 \text{ } \mu\text{E/ml}$. Dazwischen lagen die Variationskoeffizienten für den Konzentrationsbereich von $53 \pm 7,65 \text{ } \mu\text{E/ml}$. Während die Präzision für den mittleren und höheren Konzentrationsbereich befriedigend ist, muß die Präzi-

sion bei den niedrigen Konzentrationen als nicht ausreichend angesehen werden. Verschiedene Gründe können hierfür verantwortlich sein. Einen Einfluß hat sowohl das initiale G/F-Verhältnis (G/F_0) als auch die übrigen G/F-Werte, die den hyperbolischen Verlauf der Eichkurve bestimmen und somit die Ablesegenauigkeit beeinflussen. Wie die statistische Berechnung der G/F-Verhältnisse von 26 Eichkurven verschiedener Testpackungen zeigt, liegen die Variationskoeffizienten für die G/F-Quotienten zwischen 10,9 und 17,13 %. Es ist zu empfehlen, über größere Zeiträume hinweg die G/F-Verhältnisse statistisch auf ihre Streubreite hin zu überprüfen, um die Qualität der Eichung zu kontrollieren. Ursache unterschiedlicher G/F-Werte können Degradationsprodukte sein, die bei der Markierung des Insulins mit Jod-125 und auch während der Inkubation des markierten Hormons mit dem Serum entstehen und sich unspezifisch an Serumproteine binden. Es resultiert eine Verschiebung des G/F-Quotienten zugunsten des antikörpergebundenen Jod-125-Insulins. Deshalb darf die Reinigung des Hormons vor der Analyse durch die Sephadex-Säulenchromatographie nie unterbleiben. Melanie wies nach, daß sich die Verteilung der unspezifischen Radioaktivität auf Amberlite und den Überstand mit der Konzentration des Albumins oder der Serumproteine im Lösungsmittel ändert. Bei Gebrauch eines Puffers ohne Albumin oder mit geringer Albuminkonzentration (0,2 - 0,5 %) werden die Degradationsprodukte zum größten Teil von dem Anionenaustauscher adsorbiert (12). Steigt die Albuminkonzentration in

dem Puffer, so nimmt die Radioaktivität im Überstand zu. Mit einer Albuminkonzentration von 2 - 4 % erreicht die Reaktion einen Grenzwert, der durch weitere Zugaben von Albumin deutlich überschritten wird (12). Der Phosphatpuffer des Radioimmunbestecks Insulin hat mit 0,25 % Albumin die für die Adsorption von Degradationsprodukten richtige Konzentration. Der Anteil an unspezifischer Radioaktivität, die während der Inkubation entsteht, läßt sich durch Verdünnung des Serums von 1 : 10 weitgehend verringern. Wegen der unbefriedigenden Präzision der Methode in den niedrigen Konzentrationsbereichen sind Drei- oder Mehrfachbestimmungen unerlässlich. Eine besser Präzision ist auch dann zu erwarten, wenn die Analysen vom gleichen Untersucher und zum gleichen Zeitpunkt nach Markierung des Hormons durchgeführt werden.

Die Prüfung der Richtigkeit brachte für die untersuchten Konzentrationen gute Resultate. Interessant war auch hier, daß die durchschnittliche Wiederfindung bei der niedrigsten Konzentration 92,6 %, bei der mittleren 97,4 % und bei der höchsten 98,9 % betrug. Analoge Resultate zeigten die Berechnungen der Regression. Die beste Übereinstimmung zwischen erwarteten und gefundenen IMI-Konzentrationen ergab sich für die Ausgangskonzentration von 99 $\mu\text{E/ml}$, eine etwas geringere, jedoch noch gute Übereinstimmung für die Konzentration von 47 $\mu\text{E/ml}$ und die geringste, jedoch durchaus befriedigende Übereinstimmung für die Konzentration von 13 $\mu\text{E/ml}$.

Die von verschiedenen Autoren angegebene Empfindlichkeit radioimmunologischer IMI-Bestimmungen liegt zwischen 0,5 und 2 $\mu\text{E/ml}$ (Tab. 6). Wie die eigenen Untersuchungen ergaben, sind IMI-Konzentrationen zwischen 0 und 2 $\mu\text{E/ml}$ nicht mehr exakt nachzuweisen. Die unterste von uns zuverlässig bestimmbare IMI-Konzentration, die wie bei allen Bestimmungen den Ablesefehler von der Eichkurve mit einschließt, lag für die Sollkonzentration von 1,5 $\mu\text{E/ml}$ bei 2 $\mu\text{E/ml}$ Serum. Die Empfindlichkeit radioimmunologischer Insulinbestimmungen wird entscheidend von der Konzentration des markierten Insulins beeinflusst. Je geringer die Konzentration des Jod-125-Insulins ist, um so empfindlicher ist die Methode. Jedoch gestatten nur hohe spezifische Radioaktivitäten niedrige Hormonkonzentrationen (12). Zudem hat auch die Energie der Antikörperbindung auf die Empfindlichkeit einen Einfluß, da der standardfreie Energieaustausch, der zur Bildung des Antigen-Antikörperkomplexes führt, für den initialen Abfall von G/F der Eichkurve verantwortlich ist. Weder der Titer noch die Konzentration der Antiseren sind hierbei von Bedeutung. Lediglich die Energie des Antiserums bestimmt den Abfall von G/F nach Zugabe entsprechender Insulinmengen (12). Wenn also ein Antiserum trotz hohen Titers wenig Energie aufweist und nach Zusatz geringer Insulinmengen kaum einen Abfall erkennen läßt, ist es für die radioimmunologische Bestimmung nicht geeignet. Ob die von D. Rodbard angegebene Linearisierung der Eichkurve unter Verwendung der logit-Transformation ein praktikables Verfahren darstellt, die Empfindlichkeit zu ver-

bessern, muß weiteren Untersuchungen vorbehalten bleiben (16, 17). Nach Angaben des Autors soll sich die Präzision der Methode hierbei verschlechtern (17).

Zusammenfassung

Als Zuverlässigkeitskriterien radioimmunologischer Insulinbestimmungen wurden Spezifität, Präzision, Richtigkeit und Empfindlichkeit der Methode geprüft. Der bei Pankreatektomierten und insulinbedürftigen jugendlichen Diabetikern trotz maximaler B-Zellenstimulation ausbleibende Insulinnachweis spricht neben den Resultaten der Wiederfindungsversuche für eine hohe Spezifität. Während die Präzision des Verfahrens für den mittleren ($53 \pm 7.65 \text{ } \mu\text{E/ml}$) und hohen Konzentrationsbereich ($100 \pm 13 \text{ } \mu\text{E/ml}$) als befriedigend beurteilt werden kann, ist die Präzision für den unteren Konzentrationsbereich unzureichend. Die Richtigkeit der Methode ist gut. Die Empfindlichkeit liegt nach eigenen Messungen bei $2 \text{ } \mu\text{E/ml}$. Für Eichkontrollen hat sich bewährt, die Streubreite der G/F-Werte statistisch zu ermitteln.

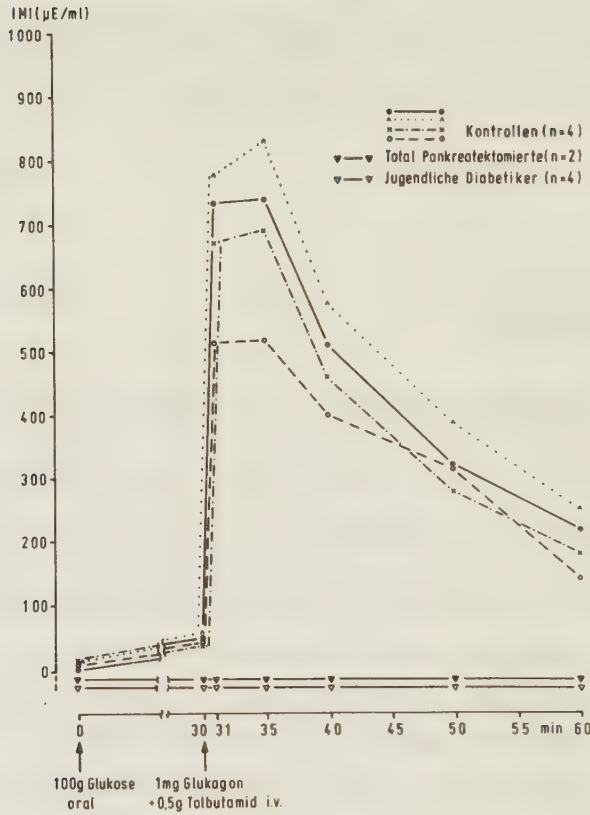


Abb. 1

Immunologisch meßbares Insulin unter den Bedingungen einer maximalen B-Zellenstimulation bei total Pankreatektomierten ($n = 2$), insulinbedürftigen jugendlichen Diabetikern ($n = 4$) und stoffwechselgesunden Probanden ($n = 4$)

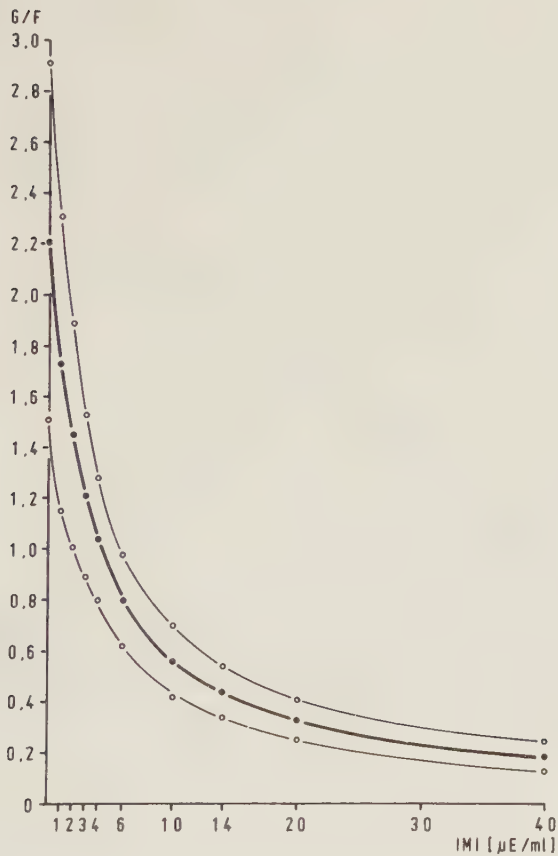


Abb. 2

Graphische Darstellung von Mittelwerten ($\bar{x}$) mit zweifacher Standardabweichung ($2s$) der G/F-Quotienten aus 26 Eichkurven verschiedener Test-Packungen ($n = 26$).

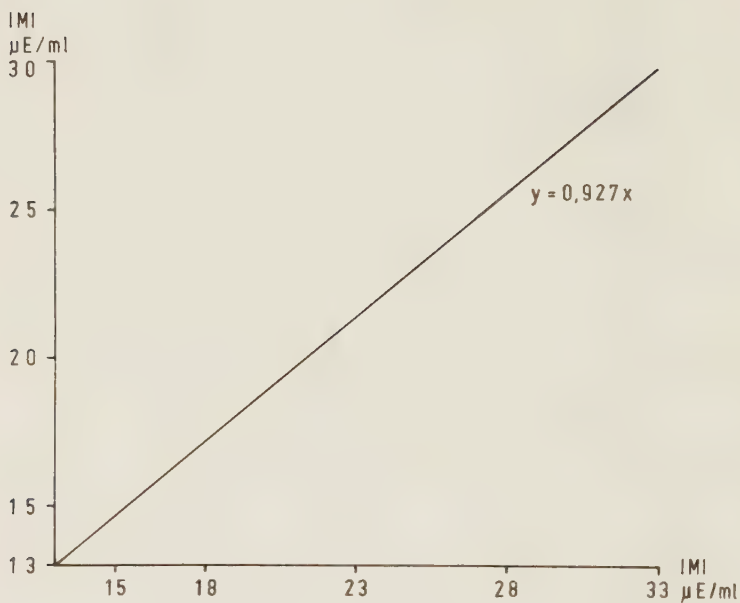


Abb. 3 a

Richtigkeitskontrolle radioimmunologischer Insulinbestimmungen.
Darstellung der Regression für die Ausgangskonzentration von
13 $\mu\text{E/ml}$.

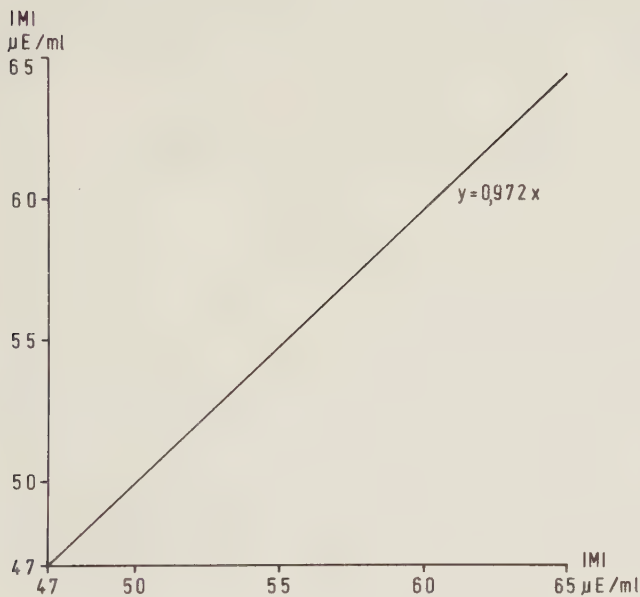


Abb. 3 b

Richtigkeitskontrolle radioimmunologischer Insulinbestimmungen.
Darstellung der Regression für die Ausgangskonzentration von
47 μE/ml.

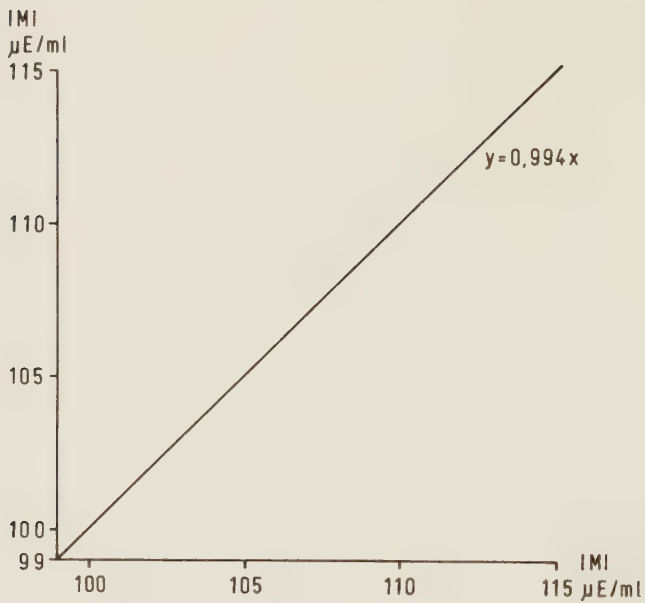


Abb. 3 c

Richtigkeitskontrolle radioimmunologischer Insulinbestimmungen.
Darstellung der Regression für die Ausgangskonzentration von
99 $\mu\text{E/ml}$.

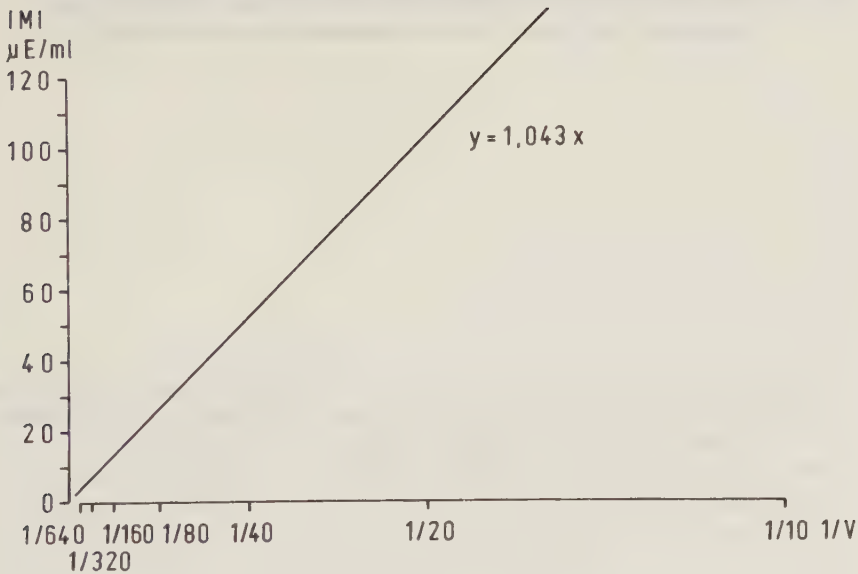


Abb. 4

Verdünnungsversuch, Darstellung der Regression für die Ausgangskonzentration von 106 $\mu\text{E/ml}$.

Tab. 1

Anreicherung eines Poolserums bekannter IMI-Ausgangskonzentration (54 μ E/ml) mit steigenden Mengen kristallinen Insulins. Durchschnittliche Wiederfindung von 97 %.

Ausgangskonz. μ E/ml	Zusatz μ E/ml	Sollkonz. μ E/ml	Istkonz. μ E/ml	Differenz μ E/ml	Wiederfindung %
54	-	54	54	0	-
54	5	59	57	- 2	96,6
54	10	64	61	- 3	95,3
54	20	74	76	+ 2	102,7
54	30	84	79	- 5	94
54	40	94	90	- 4	95,7

Tab. 2

Mittelwerte ($\bar{x}$), Standardabweichung (s) und Variationskoeffizienten (VK) für die G/F-Quotienten aus 26 Eichkurven von verschiedenen Testpackungen (n = 26).

	Konzentration der Eichstandards									
G/F n=26	0µE/ml	1µE/ml	2µE/ml	3µE/ml	4µE/ml	6µE/ml	10µE/ml	14µE/ml	20µE/ml	40µE/ml
$\bar{x}$	2,31	1,73	1,45	1,21	1,04	0,8	0,56	0,44	0,33	0,19
s	0,35	0,29	0,22	0,16	0,12	0,09	0,07	0,05	0,04	0,03
V K	16,0	16,63	14,93	13,0	11,76	10,93	13,13	12,15	13,45	17,13

Tab. 3

Präzisionsprüfung für verschiedene Konzentrationsbereiche des immunologisch meßbaren Insulins (IMI).

Konzentrationsbereich ($\bar{x} \pm 2s$; $n = 8$)	Präzision	
	in der Reihe ($n = 21$)	von Tag zu Tag ($n = 12$)
$13 \pm 4,45 \mu\text{E/ml}$	VK = 14,1%	VK = 34,4%
$53 \pm 7,65 \mu\text{E/ml}$	VK = 8,54%	VK = 14,3%
$100 \pm 13,9 \mu\text{E/ml}$	VK = 7,04%	VK = 13,9%

Tab. 4 a

Prüfung der Richtigkeit durch Zusatzversuche

Serumausgangskonzentration: 13 μ E/ml

Den gemessenen Konzentrationen liegen Dreifachbestimmungen zugrunde.

Ausgangskonz. μ E/ml	Zusatz μ E/ml	Sollkonz. μ E/ml	Istkonz. μ E/ml	Differenz μ E/ml	Wiederfindung %
13	0	13	13	0	-
13	5	18	15,5	2,5	86,2
13	7,5	20,5	19,5	1	95,2
13	10	23	23	0	100
13	15	28	25	3	89,3
13	20	33	30,5	2,5	92,5

Tab. 4 b

Prüfung der Richtigkeit durch Zusatzversuche

Serumausgangskonzentration: 47 $\mu\text{E/ml}$

Den gemessenen Konzentrationen liegen Dreifachbestimmungen zugrunde.

Ausgangskonz. $\mu\text{E/ml}$	Zusatz $\mu\text{E/ml}$	Sollkonz. $\mu\text{E/ml}$	Istkonz. $\mu\text{E/ml}$	Differenz $\mu\text{E/ml}$	Wiederfindung %
47	0	47	47	-	
47	5	52	51	1	98,1
47	7,5	54,5	55	0,5	99,1
47	10	57	57	0	100
47	15	62	57	5	92
47	20	67	65,5	1,5	97,8

Tab. 4 c

Prüfung der Richtigkeit durch Zusatzversuche

Serumausgangskonzentration: 99 $\mu\text{E/ml}$

Den gemessenen Konzentrationen liegen Dreifachbestimmungen zugrunde.

Ausgangskonz. $\mu\text{E/ml}$	Zusatz $\mu\text{E/ml}$	Sollkonz. $\mu\text{E/ml}$	Istkonz. $\mu\text{E/ml}$	Differenz $\mu\text{E/ml}$	Wiederfindung %
99	0	99	99	0	-
99	5	104	106	2	98,1
99	7,5	106,5	105	1,5	98,6
99	10	109	107	2	98,2
99	15	114	114	0	100
99	20	119	119	0	100

Tab. 5

Prüfung der Empfindlichkeit anhand eines Verdünnungsversuches.
Untere Nachweisgrenze für immunologisch meßbares Insulin (IMI)
bei 2 μ E/ml.

Ausgangskonz. μ E/ml	Verdünnung	Gefundene Konz. μ E/ml
106	1 : 10	106
53	1 : 20	50
26,5	1 : 40	24
13,25	1 : 80	12
10,6	1 : 100	10
6,5	1 : 160	7
5,4	1 : 200	6
3,25	1 : 320	4
2,7	1 : 400	3
1,5	1 : 640	2

Tab. 6

Angaben verschiedener Autoren zur Empfindlichkeit radioimmunologischer Insulinbestimmungen.

Autor	Empfindlichkeit
Yalow u. Berson	$< 1 \mu \text{ E / ml}$
Morgan, Lazerow	$1 \mu \text{ E / ml}$
Ekins	$0,5 \mu \text{ E / ml}$
Melani, Ditschuneit	$1-2 \mu \text{ E / ml}$
Grabner, Bergner, Sommer	$2 \mu \text{ E / ml}$

Literatur

1. Albano, J. und R.P. Ekins:

The exemplification of the fundamentele principles for the attainment of high sensivity and precision in radio-immunoassay techniques in a simple assay of serum insulin, Symposion on in vitro procedure with radioisotope in clinical medicine and research, Sept. 1969, Wien

2. Büttner, H.:

Statistische Qualitätskontrolle in der klinischen Chemie, Z. klin. Chem. 2, 41 (1967)

3. Büttner, H. und D. Stamm:

Qualitätskontrolle klinisch-chemischer Untersuchungen, Z. klin. Chem. 6, 303 (1966)

4. Büttner, H.:

Fehler bei der Ausführung und Beurteilung von Laboratoriums-untersuchungen

Dtsch. med. Wschr. 20, 1050 (1963)

5. Goldberg, H.L. und R.H. Egdahl:

Studies suggesting the extra-pancreatic production of substances with insulin-like activity,

Fed. Proc. 20, 190 (1961)

6. Grodsky, G.M. und P.H. Forsham:
An immunochemical assay of total extractable insulin in
man,
J. clin. Invest. 39, 1070 (1960)
7. Hales, C.N. und P.J. Randle:
Immunoassay of insulin with insulin-antibody precipitate,
Biochem. J. 88, 137 (1963)
8. Herbert, V., Kam-Seng Lau, Ch.W. Gottlieb und S.J. Bleicher:
Coated charcoal immunoassay of insulin,
J. clin. Endocr. 25, 1375 (1965)
9. Kerp, L., Steinhilper, S. und H. Kasimir:
Ein Verfahren zum Nachweis insulinbindender Antikörper
durch Differentialadsorption,
Klin. Wschr. 10, 560 (1966)
10. Meade, R.C. und H.M. Kiltgaard:
A simplified method for immunoassay of human serum
insulin,
J. nucl. Med. 3, 407 (1962)
11. Melani, F., H. Ditschuneit, K.M. Bartelt, H. Friedrich
und E.F. Pfeiffer:
Über die radioimmunologische Bestimmung von Insulin im
Blut
Klin. Wschr. 18, 1000 (1965)

12. Melani, F.:

Die radioimmunologische Bestimmung des Insulins,
Handbuch des Diabetes mellitus, Bd. II, Herausgeber
E.F. Pfeiffer, J.F. Lehmanns, München 1971

13. Morgan, C.R. und A. Lazarow:

Immunoassay of insulin: two antibody system,
Diabetes, 12, 115 (1963)

14. Niemann, E.:

Arbeitsanleitung zum Radioimmunbesteck Insulin der Farb-
werke Hoechst AG, 1970

15. Richterich, R. und J.P. Colombo:

Ultramikromethoden im klinischen Laboratorium,
Klin. Wschr. 10, 529 (1962)

16. Rodbard, D., W. Bridson und P.L. Rayford:

Rapid calculation of radioimmunoassay results,
J. Lab. clin. Med. 74, 770 (1969)

17. Rodbard, D., P.L. Rayford, J.A. Cooper und G.T. Ross:

Statistical quality control of radioimmunoassays,
J. clin. Endocr. 28, 1412 (1968)

18. Rosselin, G., R. Assan, R.S. Yalow und S.A. Berson:
Separation of antibody-bound and unbound peptide hormones
labelled with iodine-131 by talcum powder and precipitated
silica,
Nature 212, 355 (1966)
19. Schöffling, K.:
Der Insulinstoffwechsel des pankreaslosen Hundes,
12. Symp. Dtsch. Gesell. Endokr., 200 - 214,
Wiesbaden 1966
20. Skom, J.H. und D.W. Talmage:
Nonprecipitating insulin antibodies,
J. clin. Invest. 39, 1070 (1960)
21. Yalow, R.S. und S.A. Berson:
Immunoassay of plasma insulin,
Biochem. Analysis XII, 69 (1964)
22. Yalow, R.S. und S.A. Berson:
Immunoassay of endogenous plasma insulin in man,
J. clin. Invest. 39, 1157 (1960)

Herrn Dr. W. Grabner danke ich herzlich für
die Überlassung des Themas sowie für die
Unterstützung und die wertvollen Ratschläge
bei der Durchführung der Arbeit.

Herrn Professor Dr. L. Demling danke ich
für die Übernahme des Referats.

Lebenslauf

Ich wurde am 9.10.1946 als Sohn des technischen Kaufmanns Friedrich Sommer und der Kinderärztin Dr. med. Hilde Sommer in Bonn geboren und evangelisch getauft. Nach vier Jahren Volksschule in Karlsruhe besuchte ich zunächst das Max-Planck-Gymnasium in Karlsruhe und ab Obersekunda das Gymnasium in Ettlingen. Dort erhielt ich am 8.3.1966 das Zeugnis der Reife. Anschließend begann ich an der Friedrich-Alexander-Universität zu Erlangen mit dem Medizinstudium. Das Vorphysikum absolvierte ich im Februar 1967, das Physikum im August 1968, beides mit der Gesamtnote "gut". Am 3.2.1972 bestand ich das medizinische Staatsexamen ebenfalls an der Universität zu Erlangen mit der Gesamtnote "sehr gut".

Offsetdruck-Fotodruck

J. Hogl, 8520 Erlangen Hauptstr. 109, (Nähe Martin-Luther-Platz) Tel. 22990